

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof.Dr.I.Boll)

Die Wirkung einer Serumfraktion von Splenomegalie-
patienten auf die Proliferation von menschlichem
Knochenmark in vitro.

Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Assadullah T a j aus

Kabul / Afghanistan

1976

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses

Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof.Dr.I.Boll)

Die Wirkung einer Serumfraktion von Splenomegalie-
patienten auf die Proliferation von menschlichem
Knochenmark in vitro.

Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Assadullah T a j aus

Kabul / Afghanistan

Referent: Prof. Dr. med. I. Boll

Korreferent: Prof. Dr. H. Brücher



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 06.09. 1976

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T

	<u>Seite</u>
I. Einführung in die Problematik	1
II. Fragestellung	6
III. Methode	7
IV. Ergebnisse	13
V. Zusammenfassung	47
VI. Diskussion	52
VII. Zusammenfassung	54
VIII. Literatur	55

EINFÜHRUNG IN DIE PROBLEMATIK

Bei der Behandlung der Frage nach der Bedeutung der Milz im Endokrinum (27) muß zwischen zwei prinzipiellen Möglichkeiten unterschieden werden. Greift die Milz durch Abgabe eines spezifischen Stoffes, etwa in Form eines Hormones in den Regulationsmechanismus der einzelnen endokrinen Drüsen ein, ist sie also selbst in einer Teilfunktion als endokrines Organ anzusehen oder beeinflußt sie den Metabolismus oder die Konjugation verschiedener Hormone (16, 17, 18, 34, 35)? Ehe auf diese Probleme im einzelnen eingegangen werden soll, muß ein historischer und literarischer Überblick derjenigen Befunde und Ansichten vorausgeschickt werden, die in weiterem Zusammenhang diese Thematik betreffen.

GALEN schrieb der Milz Produktionsstätte der "schwarzen Galle" in der Humoralpathologie einen bedeutsamen und festen Platz zu, so prägt er auf der anderen Seite den Begriff "Organon plenum mysterii", der noch heute seine Gültigkeit hat. Fehlen doch nach Verlust der Milz eindeutige funktionelle Ausfallserscheinungen.

Seit GRETZEL und BANTI sind Beziehungen der Milz zum blutbildenden System bekannt. Ist man sich heute auch über die Indikation zur Splenektomie bei Blutkrankheiten weitgehend einig, so herrscht immer noch Uneinigkeit in der Frage des physiologischen und pathophysiologischen Substrates. Aus vielen Beobachtungen (26) geht hervor, daß es eine deutliche Leukocytose nach Splenektomie gibt.

Nachdem ISAAC (19) eine endokrine Funktion der Milz forderte, postulierte FRANK (12, 13) eine hormonelle Wirkung der Milz auf das Knochenmark.

Aufgrund des Fehlens einer morphologischen, drüsigen Differenzierung der Milz lehnt man heute im allgemeinen ein "Milzhormon" (21, 30, 31) in der klassischen Definition ab.

Bei der Beurteilung von Ergebnissen, die durch Splenektomie erzielt wurden ist zu bedenken, daß der normale Organismus auf den Verlust eines großen Teiles des retikuloendothelialen und lymphatischen Systems mit dem Versuch eines Ersatzes reagiert. Er bildet diese Zellen mit der Zeit in der Leber. Wenn die in Milzextrakten vorhandenen Stoffe nicht organspezifisch sind und sich andererseits nach Verabfolgung derartiger Extrakte eine mit anderen Organextrakten nicht zu reproduzierende Leistung zeigen, so müssen sie eine spezifische Zusammensetzung haben. Nach selektiver Röntgenbestrahlung der Milz (23) beim Kaninchen konnte eine Unterdrückung der Erythropoese, gemessen an der Retikulozytenausschüttung, festgestellt werden.

V. ALBERT (1,2,3) untersuchte eiweißfreie Extrakte aus künstlich hypersplenisch gemachten Milzen von Kälbern an Knochenmarkkulturen. Sie bewirkten Proliferations- und Reifungshemmung der Granulozytopoese und eine geringe Stimulierung der Erythropoese. Die Knochenmarkkulturen erwiesen sich damit als geeignetes Testverfahren für den Nachweis auf das Knochenmark in vitro wirksamer Milzstoffe. Deswegen erschien es lohnend, auch die Wirkung ähnlicher Extrakte aus hypersplenischen Milzen (11, 14, 25) des Menschen zu untersuchen. Die Milz (18) eines Patienten, der wegen eines schweren typischen Hyperspleniesyndroms mit Anämie und Leukopenie splenektomiert werden mußte, wurde sofort nach der Operation bei -20°C eingefroren und später nach einem speziellen Verfahren aufbereitet. Dieser Versuch zeigte eine deutliche depressive Wirkung auf das granulozytopoetische System, das erythropoetische System wurde wenig oder fast gar nicht beeinflusst. Das Ausbleiben des Leukozytenanstiegs wurde bei Fällen von splenopathischer Markhemmung vor der Milzexstirpation beobachtet.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß nach einem speziellen Verfahren hergestellte Extrakte einen bzw. mehrere knochenmarkswirksame Faktoren enthalten, die in der Knochenmarkkultur einen dem klinischen Bild der splenogenen Markhemmung, im Hinblick auf die Granulocytopoese, ähnlichen Zustand bewirkten (1,2).

BOLL (6,7,8) beschäftigt sich mit der Frage, ob das Knochenmark nur auf die vermehrte Zerstörung der Blutzellen in der vergrößerten Milz in irgendeiner Form reagiert. Sie hat deswegen die Kinetik des Knochenmarkes von Splenomegaliepatienten nach Differential- und Mitosezählung und nach dem Verhalten in der drei-Tage-Kultur beurteilt, sowie mit den Normwerten (9,10) in Beziehung gesetzt. Es wurde festgestellt, daß die Proerythroblasten und die basophilen Erythroblasten bei Patienten mit Milztumor vermehrt waren. Damit lag eine Linksverschiebung der Erythropoese sowie ihre relative Vermehrung mit G/E-Index von 2,4 (normal 3,7) vor. Die Granulocytopoese war stark nach rechts verschoben mit 32 % Segmentkernigen. Die Anzahl der Mitosen waren sowohl in der Erythropoese wie auch in der Granulocytopoese vermindert. Die ermittelten Reifungskurven der Erythropoese zeigten bei Splenomegaliepatienten wie im normalen Knochenmark und auch sonst eine gute Ausreifung, aber bei der Hälfte der untersuchten Fälle trat in den ersten 24 Stunden keine Verschiebung der Differentialverteilung ein, trotz relativer Zunahme der Erythropoese nach dem G/E-Index. Später kam es zur Reifung, aber nicht wie bei den anderen Kulturen zum Anstieg des G/E-Index als Ausdruck der Ausreifung der Erythropoese bis zu den Erythrocyten.

Bei den Reifungskurven der Granulopoese wurde festgestellt, daß nach 24 Stunden die teilungsfähigen Granuloblasten vermehrt waren, später kam es zu keiner nennenswerten Vermehrung der Segmentkernigen, also zu einer Ausreifungshemmung.

Aus den Untersuchungen ergab sich für beide Reihen der Hämatopoese eine in der Coagulumkultur darstellbare Reifungsstörung bei schon in vivo eingeschränkten Regeneration. Die herabgesetzte Proliferation der Erythropoese und Granulopoese läßt sich nicht als Kompensation eines vermehrten Zellenunterganges im Milztumor erklären, sondern spricht vielmehr für eine andersartige Beeinflussung des Knochenmarkes durch die Fibroadenie der Milz.

SCHULZ (32) setzte dem Knochenmark verschiedener Patienten gefrorenes und nicht gefrorenes Serum zweier Patienten mit Hyperspleniemilzen zu und stellte in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von BOLL und V. ALBERT eine deutliche signifikante Reifungshemmung der Granulopoese und eine mäßige Reifungsförderung der Erythropoese fest. Es entstand die Frage, ob der Faktor in einer Serumfraktion nachweisbar sein würde. Deswegen erfolgte eine Ammonsulfatfällung der Seren derselben Patienten.

RIEKE (28) untersuchte die Proliferationsänderungen von menschlichen Knochenmarkkulturen nach Applikation von dialysiertem Überstand nach Ammoniumsulfatfällungen der Seren von zwei Patienten mit hypersplenischen Milzen und stellte eine erhebliche Reifungsförderung der Erythropoese und eine leichte Reifungshemmung der Granulopoese fest.

SIEGFRIED (33) untersuchte die Einwirkung von Serumdialysaten nach Ammonsulfatfällungen (Fraktion 2), von Patienten mit hypersplenischen Milzen, auf menschliches Knochenmark. Dieses Dialysat, derselben Patienten mit hyperplenischen Milzen, zeigte in den Reifungskurven auch nicht die Wirkung einer starken Hemmung

der Granulozytopoese, wie es das Gesamtserum hervorgerufen hatte. Die untersuchte Fraktion wirkte nur schwach hemmend auf die Reifung der Granulozytopoese, aber stark aktivierend auf die Reifung der Erythrozytopoese.

Die Disseration von MEISSNER (24) zeigte mit denselben Seren, gegen physiologisches Kochsalz dialysiert, eine geringfügige Reifungshemmung in der Erythropoese und eine leicht Reifungsförderung in der Granulopoese.

Nachdem sehr unterschiedliche Effekte durch die drei Fraktionen erzielt waren, wurde von Prof. RUHENSTROTH ein anderer Aufarbeitungsmodus der Seren vorgenommen.

FRAGESTELLUNG

Diese Arbeit befaßt sich mit Knochenmarkkulturen nach Zusatz einer neuen Serumfraktion, die einen niedermolekularen Hemmstoff von 10 - 50 000 Molekulargewicht enthalten müßte. Die Auswertung erfolgt durch Differentialzählung gefärbter Stichproben-Ausstriche bis zu 72 Kulturstunden. Danach ist zu beurteilen, wie sich die Proliferationskinetik am Knochenmark des Menschen sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese nach Zusetzung einer Serumfraktion eines Patienten mit Milztumor bei Lebercirrhose im Vergleich zu Kontrollkulturen ohne Zusatz verhält.

Wie verhalten sich Erythropoese und Granulopoese zueinander (G/E-Index)?

Wie ist die Mitosenhäufigkeit (Mitoseindices) beider hämatopoetischer Reihen?

Wie verhalten sich die Mitosephasen zueinander (karyologische Kurve)? Ergibt sich eine Beschleunigung bzw. Verzögerung der einzelnen Phasen der Mitosen durch den Zusatz?

Wie ist die Differentialverschiebung während 72 Stunden sowohl bei der Erythropoese wie bei Granulopoese zu beurteilen (Reifungskurven)?

METHODE

Nach der Carrel-Deckglaskulturmethode, modifiziert nach BOLL (5), wurde das durch Sternalpunktion gewonnene Knochenmark in Kultur gebracht. Ein Teil des gewonnenen Materials diente zur Anfertigung von Originalausstrichen, die nach PAPPENHEIM gefärbt wurden. Dem restlichen Knochenmark wurde zur Verhinderung der Blutgerinnung Heparinlösung in Hanks-Lösung zugesetzt. Zur Herstellung des Nährmediums wurde statt Hühnerplasma und Hühnerembryonalextrakt menschliches Nativplasma verwandt, dem als Wachstoffsstoff das Präparat corhormon^R der Firma Chemiewerke Homburg zugesetzt war.

Für die Kontrollkulturen bestand das Nährmedium aus 50 % Nativplasma, 40 % Serum des Patienten und 10 % Corhormon^R, dreifach verstärkt, für die Zusatzkulturen aus 50 % Nativplasma des Patienten, 10 % Corhormon^R, dreifach verstärkt, und 40 % einer Serum-Fraktion. Die Serum-Fraktion wurde in folgender Weise gewonnen: Das Serum wurde mit Ammonsulfat gesättigt, so daß eine 100 % Sättigung herbeigeführt wurde. Der nach Fällen des Niederschlags gelöste Rest wurde gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert, auf das Ausgangsvolumen gebracht und bis zur Verwendung eingefroren aufbewahrt.

Von dem gemischten Medium wurde auf ein Deckglas ein Tropfen gegeben, der nach wenigen Minuten ein Koagulum bildete. Nach Aufbringung eines Knochenmarkbröckchens auf das Koagulum wurde mit fraktioniertem Serum der Patient mit Milztumor überschichtet. Danach wurden die Kulturen mit Hohlschliffobjektträgern bedeckt, durch Hartparaffin luftdicht abgeschlossen und umgedreht, so daß Kulturen am hängenden Tropfen entstanden. Diese wurden bei 37° C für 24 h, 48 h und 72 h bebrütet, ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt.

Die Auszählung erfolgte mäanderförmig in den aufgelockerten Randpartien der Präparate. Von den fünf untersuchten Patienten wurden pro Präparat 2000 Zellen ausgezählt, also bei 7 Stichproben 14 000 Zellen in einem Versuch.

Die Erythropoese und Granulopoese wurden wie in folgenden Zellen differenziert nach BOLL (8), BOLL und MERSCH (9) und HECKNER (13):

Erythropoese:

Proerythroblast	(PE)
Basophiler Erythroblast	(bE)
Polychromatischer Erythroblast	(pE)
Oxyphiler Erythroblast	(oE)
Reifer Erythroblast	(rE)

Granulopoese:

Myeloblast	(Mb)
Promyelocyt	(Pr)
neutrophiler Myelocyt	(My)
eosinophiler Myelocyt	(eMy)
basophiler Myelocyt	(bM)
Promonocyt	(Pmo)
Metamyelocyt (Jugendlicher)	(MM)
Stabkerniger Granulocyt	(St)
neutrophiler segmentkerniger Granulocyt	(Seg)
eosinophiler segmentkerniger Granulocyt	(eSe)
basophiler segmentkerniger Granulocyt	(bSe)
Monocyt	(Mz)

Außerdem wurden folgende Zellen gezählt:

Megakaryoblasten	(Mkb)
Megakaryozyten	(Mkz)
Lymphoblasten	(Lb)
Lymphozyten	(Lz)

Nach ROHR (29) wurden folgende Zellen als teilungsfähig angesehen

Bei der roten Reihe: PE, bE, pE, oE.

Bei der weißen Reihe: Mb, Pr, My, eMy, Pmo, MM.

Da die basophilgranulierten Zellen im Zählergebnis nicht ins Gewicht fallen, bleiben sie unberücksichtigt. Die eosinophilen Stabkernigen wurden eosinophilen Segmentkernigen und die eosinophilen Metamyelozyten den eosinophilen Myelozyten zugeordnet.

Die Ergebnisse der Differentialzählung der Erythropoese und Granulopoese wurden in Reifungskurven in Abhängigkeit von der Kulturzeit graphisch dargestellt. Außerdem ist es notwendig, folgende Begriffe zu erläutern.

Der G/E-Index gibt die Gesamtzahl der Granulozytopoese durch die Gesamtzahl der Erythropoese an. Der Mitoseindex stellt ein wichtiges Merkmal für den Grad der Knochenmarkproliferation dar. Er errechnet sich folgendermaßen:

$$\begin{aligned} \text{roter Mitoseindex (rMI)} &= \frac{\text{Anzahl der Erythroblasten-Mitosen} \times 1000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Erythroblasten}} \\ \text{weißer Mitoseindex (wMI)} &= \frac{\text{Anzahl der Granuloblasten-Mitosen} \times 1000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Zellen der Granulopoese}} \end{aligned}$$

Die Mitosen wurden nach BOLL's angegebenen Kriterien in folgende Phasen unterteilt (8):

- a) Prophasen (P): Die Kernmembrane haben sich aufgelöst. Nucleoli gibt es nicht mehr, die Kernstruktur ist aufgelockert, es besteht ein fester Spirem.
- b) Frühe Metaphase (fM): Die Chromosomen verteilen sich über die ganze Zelle, das feste Spirem wandelt sich zum lockeren Spirem.
- c) Späte Metaphase (sM): Die Chromosomen sind zur Äquatorialplatte angeordnet (Monaster).
- d) Anaphase (A): Die in zwei Gruppen auseinanderweichenden Chromosomen bilden den Dias

e) Telophase (T):

Einschnürung des Cytoplasmas.
Die Chromosomen bilden jetzt
ein lockeres Dispirem.

f) Rekonstruktionsphase (R):

Bildung eines festen Dispirems,
die Kerne sind durch das Fehlen
der Membranen und Nucleolen in
den durch Cytoplasmateilung ent-
standenen zwei Zellen noch nicht
völlig ausgebildet.

Anhand des χ^2 -Test nach HELMERT PEARSON wurde die Signifikanzberechnung für Differentialverteilung der Erythropoese, der Granulopoese, die Mitoseindices und die G/E- Indices durchgeführt. Die χ^2 -Werte berechnen sich nach folgender Formel:

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(B_k - E_k)^2}{E_k} \right] + \sum \left[\frac{(B_z - E_z)^2}{E_z} \right]$$

Folgende Bezeichnung bedeuten:

- χ^2 = Summe der Einzelergebnisse
- $\sum$ = Summe der innerhalb der Klammern berechneten Werte
- B_k = Beobachtungswert der Kontrollgruppe
- E_k = Erwartungswert der Kontrollgruppe
- B_z = Beobachtungswert der Zusatzgruppe
- E_z = Erwartungswert der Zusatzgruppe

Für die Auswertung auf Unterschied und Stetigkeit wurden jeweils ein und zwei Freiheitsgrade berücksichtigt.

Für die verschiedenen Zellformen der Erythropoese gibt es einen Freiheitsgrad von 4, bei Granulopoese mit zehn Reifungsstufen einen Freiheitsgrad von 9. Die Ermittlung der p-Werte erfolgte aus den von PÄTAU konstruierten graphischen Tafeln. Die Erwartungswerte errechnen sich aus

$$E = n \cdot p$$

dabei ist p die relative Häufigkeit in der vereinigten Stichprobe und n die Summe der Beobachtungswerte.

ERGEBNISSE

Es wurden fünf Versuche ausgewertet. Insgesamt wurden 50 000 Zellen ausgezählt.

Von den 50 000 differenzierten Zellen konnten 138 rote und 435 weiße Mitosen ausgezählt werden. Die schematische Darstellung (Abb.7) und die Signifikanzberechnung (Tab.16, 17) der Summen aller Versuche wurden angefertigt. Es war noch nötig, die Kurven auf Stetigkeit zu überprüfen im Vergleich zur Kontrolle, ob eine Signifikanzberechnung von der Summe aller Werte noch überhaupt zulässig war (Tab.13).

Zur Zeit der Serumentnahme hatte die 59-jährige Patientin mit splenogener Markhemmung bei Lebercirrhose, deren Serum fraktioniert wurde, folgende Blutwerte:

Blutbild vom 23.9.1969

Elektrophorese

		Normwerte	rel. %
Erythrozyten	3,8 Mill/ μ l	A 40-50	30,8
Hb	11 g%	α_1 3-9	8,8
HbE	28,2 pg	α_2 8-12	14,0
Leukozyten	4600/ μ l	B 12-18	12,4
Stabkernige	7 %	γ 22-26	34,0
Segmentkernige	42 %	Eiweiß 6,6-8,2g%	6,72 g%
Lymphozyten	46 %		
Monozyten	5 %		
Thrombozyten	66000/ μ l		
BSG	11/28		

Zellspender für Versuch 1

Patient: B.G., 83 Jahre männlich

Diagnose: Hamolytische 'Anaemie

Blutbild vom 15.5.1972

Erythrozyten	1,86 Mill/ μ l
Hb	6,8 g%
HbE	32,3 pg
Leukozyten	4100/ μ l
Stabkernige	0%
Segmentkernige	49%
Lymphozyten	36%
Monozyten	7%
BSG	55/120
Eisenspiegel i.S.	91 μ g%
Thrombozyten	150 000/ μ l

Elektrophorese

A	62,9 rel. %
α_1	1,9 "
α_2	4,4 "
β	10,4 "
γ	20,2 "

Zellspender für Versuch 2

Patient: P.O., 77 Jahre männlich

Diagnose: Metastasierendes Bronchialcarcinom

Blutbild vom 12.5.1972

Erythrozyten	4,6 Mill/ μ l
Hb	13,5 g%
HbE	29,5 pg
Leukozyten	9500/ μ l
Eosinophile	4%
Stabkernige	24%
Segmentkernige	59%
Lymphozyten	1 %
Monozyten	2%
BSG	19/48
Eisenspiegel i.S.	40 μ g%
Thrombozyten	80 000/ μ l

Elektrophorese

A	61,7 rel. %
α_1	6,0 "
α_2	9,4 "
β	10,0 "
γ	12,7 "

Zellspender für Versuch 3

Patient: H.A. 67 Jahre, weiblich

Diagnose: Splenogene Markhemmung

Blutbild vom 25.1.1972:

Erythrozyten	3,4 Mill/ μ l
Hb	9,3 g%
HbE	27,3 pg
Leukozyten	3500/ μ l
Eosinophile	1%
Stabkernige	4%
Segmentkernige	75%
Lymphozyten	9%
Monozyten	11%
BSG	24/56
Eisenspiegel	99 μ g%
Thrombozyten	75 000/ μ l

Elektrophorese

A	54,5 rel%
α_1	3,2 "
α_2	4,2 "
β	9,01 "
γ	28,0 "

Zellspender für Versuch 4

Patient: B.F., 76 Jahre, weiblich

Diagnose: Metastasierendes Carcinom bei unbekanntem Primärcarcinom

Blutbild vom 23.3.1972

Erythrozyten	3,4 Mill/ μ l
Hb	11,8 g%
HbE	34 pg
Leukozyten	9500/ μ l
Stabkernige	5%
Segmentkernige	79%
Lymphozyten	11%
Monozyten	5%
BSG	35/50
Thrombozyten	120 000/ μ l

Elektrophorese

A	63,3 rel%
α_1	3,2 "
α_2	4,3 "
β	9,8 "
γ	28,0 "

Zellspender für Versuch 5

Patient: V.A., 74 Jahre, weiblich

Diagnose: Splenogene Markhemmung

Blutbild vom 23.6.1972:

Elektrophorese

Erythrozyten	3,2 Mill/ μ l	A	54,9 rel%
Hb	11,5 g%	α_1	4,1 "
HbE	35,6 pg	α_2	9,8 "
Leukozyten	1400/ μ l	β	9,8
Eosinophile	1%	γ	21,3
Stabkernige	15%		
Segmentkernige	73%		
Lymphozyten	8%		
Monozyten	3%		
BSG	75/93		
Eisenspiegel	45 μ g%		
Thrombozyten	80 000/ μ l		

Um die Aussage über die Veränderung der Knochenmarkskinetik der Splenomegaliepatienten zu machen, müssen wir die einzelnen Komponenten der Proliferation der Erythropoese und Granulopoese betrachten.

Außerdem ist es zweckmäßig, die Reifung und Regeneration der Knochenmarkszellen der Splenomegaliepatienten mit den Werten der gesunden Patienten zu vergleichen.

Die Reifung wird durch die zeitabhängige prozentuale Verteilung der Zellen, die Regeneration durch die Mitoseaktivität bestimmt. Die Mitoseaktivität läßt sich rechnerisch durch den Mitoseindex (Tab.15) bestimmen. Aus den Reifungskurven von Abb. 1-6 sieht man die prozentuale Verteilung der Zellen.

Tabelle 1

Ergebnisse der Differentialzählung der fünf Versuche in der Erythropoese:

Originalpräparate:

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	16	44	232	16	352
2	320	206	96	16	76
3	82	267	262	19	280
4	18	42	186	3	51
5	18	20	161	61	24

Kontrollkulturen 24 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	12	12	41	12	305
2	200	153	304	10	110
3	36	94	236	14	526
4	10	18	95	1	138
5	14	10	142	52	135

Kontrollkulturen 48 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	15	19	41	7	159
2	50	115	150	15	280
3	24	56	89	4	505
4	13	5	64	10	483
5	4	8	41	31	150

Kontrollkulturen 72 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	7	4	19	13	355
2	30	70	148	18	215
3	17	46	423	-	62
4	6	9	65	5	282
5	3	5	32	20	220

Tabelle 2

Zusatz Milz B 24 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	25	35	30	37	395
2	95	75	74	20	90
3	56	102	222	6	577
4	25	22	77	2	229
5	40	37	274	50	196

Zusatz Milz B 48 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	12	10	55	12	250
2	28	36	66	24	170
3	16	48	145	14	561
4	40	30	80	13	240
5	4	7	52	23	241

Zusatz Milz B 72 Std.

Versuch	PE	bE	pE	oE	rE
1	2	10	52	12	365
2	8	24	50	20	120
3	8	44	86	11	560
4	7	12	23	5	93
5	-	-	-	-	-

Tabelle 3

Ergebnisse der Differentialzählung der fünf Versuche in der Granulopoese:

Originalpräparate:

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	M
1	40	166	352	15	30	80	300	110	20	42
2	82	260	132	28	10	280	150	135	7	12
3	10	100	215	8	9	92	123	240	28	53
4	19	396	294	16	9	205	64	565	15	60
5	12	144	183	8	31	202	404	217	37	30

Kontrollkulturen 24 Std.

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	M
1	12	442	248	16	12	80	125	260	40	31
2	70	271	162	10	20	120	50	60	10	40
3	17	185	375	26	6	104	67	170	32	88
4	18	672	150	10	9	168	38	656	13	73
5	10	68	168	23	22	126	36	60	20	30

Kontrollkulturen 48 Std.

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	M
1	15	305	145	28	34	87	125	322	7	10
2	65	246	180	20	20	180	105	170	20	17
3	16	255	295	21	12	110	62	352	55	60
4	5	375	149	8	3	145	39	700	27	15
5	11	110	170	13	12	150	61	115	14	20

Kontrollkulturen 72 Std.

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	M
1	20	30	150	5	17	77	60	150	5	40
2	35	180	120	10	16	150	90	40	12	20
3	8	174	355	38	4	111	79	350	81	40
4	7	239	102	10	4	90	48	620	21	10
5	15	37	62	10	35	190	102	165	18	60

Tabelle 4

Zusatz Milz B 24 Std.

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	MZ
1	65	450	85	10	10	100	45	300	15	35
2	45	336	240	30	30	265	100	200	26	27
3	12	128	328	19	8	82	71	137	12	71
4	12	657	183	24	8	204	39	480	26	45
5	13	190	268	36	24	240	88	120	65	60

Zusatz Milz B 48 Std.

Versuch	Mb	Pr	My	eMy	Pmo	MM	St	Seg	eSe	MZ
1	27	250	212	14	6	105	155	575	12	45
2	32	262	130	9	14	330	108	246	9	20
3	16	588	119	24	7	258	55	339	23	42
4	10	188	185	39	3	93	82	284	45	46
5	30	122	168	42	51	255	90	155	140	55

Zusatz Milz B 72 Std.

[illegible]

Versuch 1

Abb. 1, Tab. 5, 6, 15, 19

A. Reifungskurve der Erythropoese:

In der 24-Stunden-Kultur sieht man durch den Zusatz eine leichte Rechtsverschiebung der Proerythroblasten, der basophilen Erythroblasten und eine hoch signifikante Linksverschiebung der oxyphilen und der reifen Erythroblasten. Für die 48-Stunden-Kultur ergibt sich eine hochsignifikante Linksverschiebung, für die 72-Stunden-Kultur auch eine signifikante Linksverschiebung aller Erythroblasten.

B. Reifungskurve der Granulopoese:

In der Granulopoese ergeben sich für alle Kulturstufen (24, 48 und 72 Stunden) eine hochsignifikante Linksverschiebung.

C. G/E-Index:

Die G/E-Indices zeigen in der Kontrollkultur keine Veränderung im Vergleich zum Originalpräparat, während sich bei der Zusatzkultur eine deutliche Zunahme zeigt.

D. Mitoseindex:

Die Mitoseindices sind für alle Kulturstufen bis auf die 24-Stunden-Kultur in der Erythropoese wie auch in der Granulopoese durch den Zusatz erhöht.

Tabelle 5

Hs = hochsignifikanz

s = signifikanz

Erythropoese: Versuch 1

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
PE	200	95	202,6	92,3	0,03	0,07
bE	153	75	56,5	71,3	0,08	0,18
pE	304	74	259,6	118,3	7,56	16,50
oE	10	20	20,5	9,38	5,44	12,04
rE	110	90	137	62,50	5,45	12,00
	777	354			$\chi^2_4 = 59,47 \rightarrow \text{Hs}$ $p = 10^{-10}$	

48 Std.

PE	50	28	53,5	24,4	0,23	0,52
bE	115	36	103,6	47,3	1,24	2,70
pE	250	66	216,9	99,0	5,02	11,00
oE	15	24	26,7	12,2	5,17	11,37
rE	280	170	308,9	141,0	2,72	5,96
	710	324			$\chi^2_4 = 45,95 \rightarrow \text{Hs}$ $p = 10^{-9}$	

72 Std.

PE	30	8	25,9	11,9	0,62	1,33
bE	70	24	46,9	29,6	0,50	1,08
pE	148	50	135,4	62,5	1,16	2,50
oE	18	20	25,9	11,9	2,44	5,35
rE	215	120	229,1	105,7	0,87	1,91
	481	222			$\chi^2_4 = 17,80 \rightarrow s$ $p = 0,0015$	

Tabelle 6

Granulopoese: Versuch 1

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
Mb	70	45	44,2	70,6	15,0	9,32
Pr	271	336	233,6	373,3	5,9	3,7
My	162	240	154,7	247,1	0,34	0,20
eMy	10	30	15,3	24,5	1,87	1,20
Pmo	20	30	19,1	30,65	0,03	0,01
MM	120	265	148,1	236,6	5,3	3,38
St	50	100	57,7	92,2	1,03	0,65
Seg	60	200	100,0	159,9	16,05	10,05
eSe	10	26	13,8	22,0	1,05	0,69
Mz	40	27	25,7	41,1	7,85	4,88

813

1299

$$\chi^2_{11} = 88,73 \rightarrow \text{Hs}$$

$$p = 10^{-10}$$

48 Std.

Mb	65	32	45,4	51,5	8,43	7,38
Pr	246	262	238,0	269,9	0,26	0,23
My	180	130	145,2	164,7	8,30	7,31
eMy	20	9	13,5	15,3	2,60	2,60
Pmo	180	330	238,9	270,9	14,5	12,85
MM	105	108	99,7	113,1	0,27	0,22
St	170	246	194,8	220,9	3,17	2,83
Seg	20	9	13,5	15,3	3,12	2,60
eSe	20	14	15,85	17,9	1,0	0,88
Mz	17	20	17,2	19,6	0,00	0,00

1023

1160

$$\chi^2_{11} = 79,30 \rightarrow \text{Hs}$$

$$p = 10^{-10}$$

72 Std.

Mb	35	20	26,4	28,4	2,77	2,49
Pr	180	84	127,1	136,6	21,9	20,31
My	120	126	118,5	127,3	0,01	0,01
eMy	10	17	12,9	13,9	0,68	0,66
Pmo	16	30	22,1	23,7	1,6	1,63
MM	150	200	168,6	181,3	2,0	1,92
St	90	95	89,1	95,8	0,00	0,00
Seg	140	190	159,0	170	2,27	2,1
eSe	12	32	21,1	22,7	3,97	3,74
Mz	20	37	27,4	29,5	2,0	1,90

773

831

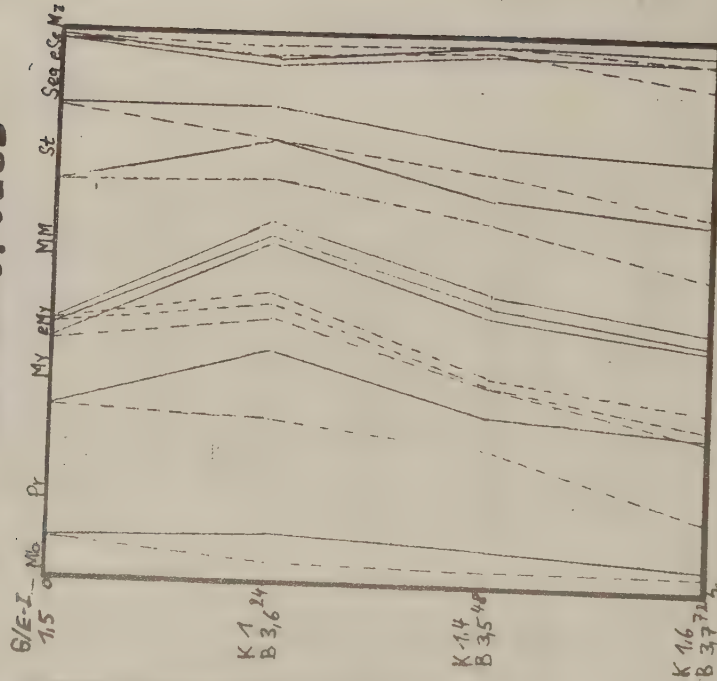
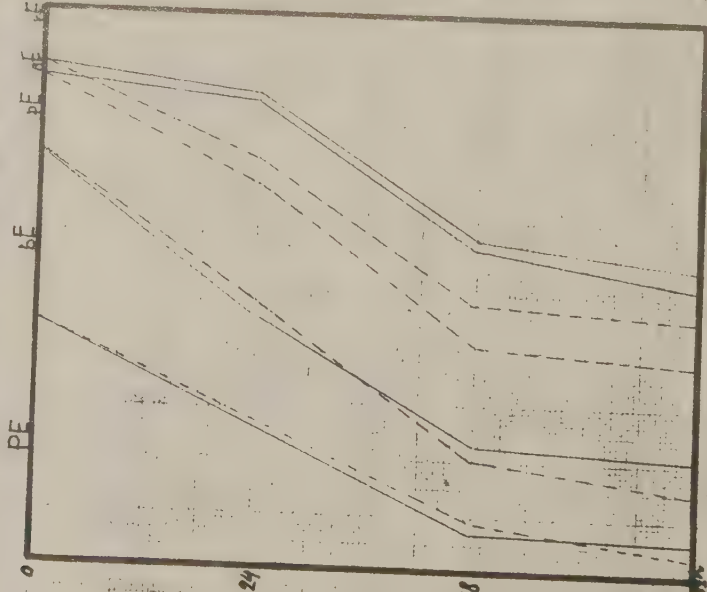
$$\chi^2_{11} = 72,29 \rightarrow \text{Hs}$$

ABBILDUNG 1

ERYTHROPOESE

GRANULOPOESE

MI %
10,3



MI %
15, 1

K 38,1
B 29,4

K 11,6
B 27

K 14,3
B 20,9

K 1,24
B 3,6

K 1,4
B 3,54

K 1,6
B 3,7

Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese:
Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.
Ordinaten: Zeit in Stunden

249
34,5

32
48,5

4,9
8,8

Versuch 2

Abb. 2, Tab. 7, 8, 15, 19

A. Reifungskurve der Erythropoese

In der 24 Stunden-Kultur zeigt sich durch den Zusatz ein signifikanter Unterschied im Sinne einer Rechtsverschiebung. Für die 48- und 72-Stunden-Kulturen ergibt sich für die Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten eine leichte Linksverschiebung. Nach 72 Stunden ergibt sich für die polychromatischen, oxyphilen und reifen Erythroblasten eine geringe Rechtsverschiebung.

B. Reifungskurve der Granulopoese:

Für die 24-Stunden-Kultur ergibt sich eine hochsignifikante Rechtsverschiebung der Promyelozyten. Eine hochsignifikante Linksverschiebung stellt sich in der 48-Stunden- und der 72-Stunden-Kultur für alle Zellarten ein.

C. G/E-Index:

Die G/E-Indices zeigen in der 24-Stunden- und 48-Stunden-Zusatzkultur eine Abnahme, während die 72-Stunden-Zusatz-Kultur deutlich zugenommen hat.

D. Mitoseindices:

Die Mitoseindices für die Kontrollkulturen der Erythropoese haben stark zugenommen, während man bei den Zusatzkulturen bis auf den 24-Stunden-Wert eine Abnahme feststellen kann.

Die Mitoseindices haben in der Granulopoese für 48-Stunden-Zusatz-Kulturen stark zugenommen im Vergleich zu den Kontrollkulturen, während bei den 72-Stunden-Zusatz-Kulturen eine leichte Abnahme festgestellt wird.

Tabelle 7

Erythropoese: Versuch 2

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² / E	
	K	Z	K	Z	K	Z
PE	12	25	14,7	22,1	0,52	0,37
bE	12	35	18,7	28,1	2,45	1,67
pE	41	80	48,4	72,5	1,14	0,76
oE	112	37	19,5	29,3	2,94	1,99
rE	305	395	280,2	419,6	2,18	1,45
	482	572			$\chi^2 = 15,50 \rightarrow s$	
					p = 0,005	

48 Std.

PE	15	12	11,2	15,7	1,28	0,89
bE	19	10	12,0	16,9	4,00	2,84
pE	41	55	39,8	36,1	0,30	0,02
oE	7	12	7,8	11,0	0,09	-
rE	159	250	169,9	239,0	0,70	0,50
	241	339			$\chi^2 = 10,47 \rightarrow s$	
					p = 0,04	

72 Std.

PE	7	2	10	12	0,00	0,00
bE	4	10				
pE	19	52	33,6	37,3	6,39	5,78
oE	13	12	7,0	7,8	4,93	4,35
rE	355	365	341,5	378,0	0,53	0,47
	398	441			$\chi^2 = 22,48 \rightarrow s$	
					p = 0,0005	

Tabelle 8

Granulopoese: Versuch 2

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
Mb	12	65	40,8	35,9	20,4	23,5
Pr	442	450	474,9	417,0	2,28	2,60
My	248	85	177,2	155,6	28,1	32,7
eMy	16	10	13,8	12,1	0,3	0,38
Pmo	12	10	11,6	10,25	0,00	0,00
MM	80	100	95,7	84,0	2,59	3,01
St	125	45	90,4	79,3	13,22	14,89
Seg	260	300	298,1	261,8	4,89	5,57
eSe	40	15	29,2	25,6	3,9	4,4
Mz	35	35	37,2	32,6	0,13	0,16
	1270	1115			$\chi^2_9 = 162,79 \rightarrow Hs$	
					$p = 10^{-10}$	

48 Std.

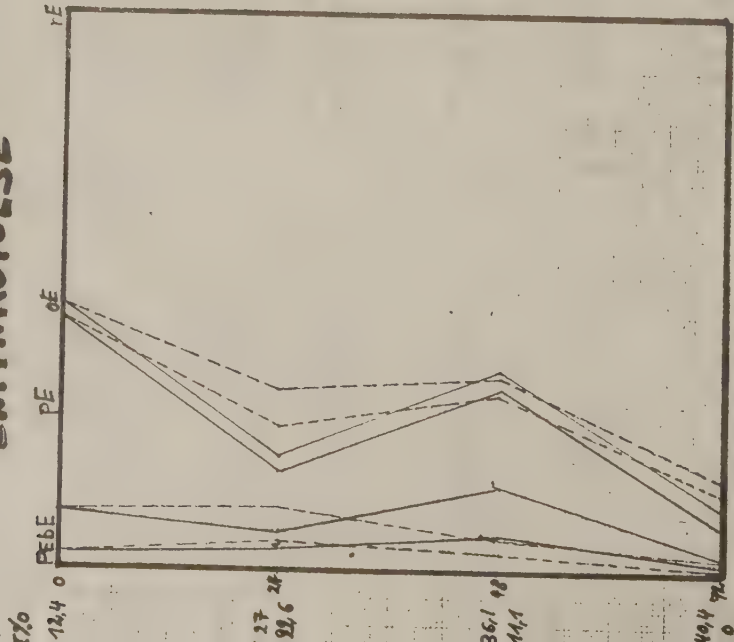
Mb	15	27	18,5	13,1	6,62	3,82
Pr	305	250	245,0	309,0	14,64	11,57
My	145	212	157,5	199,2	1,00	0,81
eMy	28	14	28,5	23,3	4,87	3,77
Pmo	34	6	17,6	22,2	15,23	11,89
MM	87	105	84,7	107,1	0,05	0,04
St	125	155	123,5	156	0,01	0,00
Seg	322	575	396,1	500,8	13,8	10,9
eSe	7	12	8,3	10,5	0,20	0,21
Mz	40	45	27,4	47,3	0,17	0,11
	1108	1401			$\chi^2_9 = 90,71 \rightarrow Hs$	
					$p = 10^{-10}$	

72 Std.

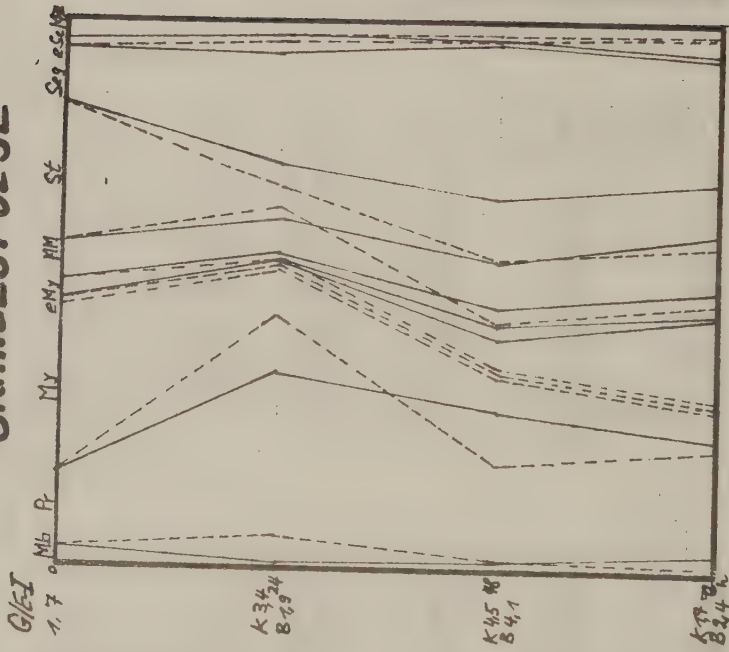
Mb	20	10	11,4	18,5	6,39	3,92
Pr	130	225	135,5	219,4	0,22	0,14
My	150	67	82,7	134,0	54,54	33,55
eMy	5	6	4,1	6,7	0,15	0,08
Pmo	17	3	113,3	183,6	3,20	2,03
MM	77	200	64,8	105,0	0,36	10,24
St	60	110				
Seg	150	397	208,8	338,1	16,50	0,21
eSe	5	12				
Mz	40	29	26,2	42,5	7,14	4,32
	654	1059			$\chi^2_9 = 143,75 \rightarrow Hs$	
					$p = 10^{-10}$	

AB BILDUNG 2

EDYTHROPOSE



GRANULOPOLYESTER



Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese:

Abzissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.

Ordinaten: Zeit in Stunden.

Erklärungen u. Abkürzungen s. 9, 10, 11

Kontrolle

= Zusatz Serumfraktion B

Versuch 3

Abb. 3, Tab. 9, 10, 15, 19

A. Reifungskurve der Erythropoese:

In der 24-Stunden-Kultur zeigt sich eine Rechtsverschiebung der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten, während die polychromatischen Erythroblasten eine Verminderung aufweisen, alle Veränderungen sind signifikant. Für die 48- und 72-Stunden-Kulturen ergeben sich Rechtsverschiebungen aller Kurven, für die 48-Stunden-Kultur hochsignifikant.

B. Reifungskurve der Granulopoese:

Eine hochsignifikante Rechtsverschiebung der Kurve sieht man in allen Zusatzkulturen, abgesehen von den Monozyten. Die Kurven sind besonders zugunsten der Metamyelozyten und der Segmentkernigen verschoben.

C. G/E-Index:

Die G/E-Indices zeigen in der 48-Stunden-Kultur und in der 72-Stunden-Kultur eine Erhöhung, während sich nach 24 Stunden eine deutliche Abnahme feststellen läßt.

D. Mitoseindices:

Sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese waren alle Zusatzwerte gegenüber den gleichzeitigen Kontrollen erhöht.

Tabelle 9

Erythropoese: Versuch 3

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² / E	
	K	Z	K	Z	K	Z
PE	10	25	14,8	20,1	1,58	1,17
bE	18	22	16,9	23,0	0,06	0,04
pE	95	77	74,3	100,6	6,33	4,66
oE	1	2				
rE	138	229	155,8	211,1	2,04	1,05
	262	355			$\chi^2_4 = 17,42 \rightarrow s$	

$$p = 0,0015$$

48 Std.

PE	13	40	31,1	21,8	10,54	15,18
bE	5	30	20,5	14,3	11,74	16,94
pE	64	80	84,6	59,3	5,03	7,20
oE	10	13	13,5	9,4	0,91	1,31
rE	483	240	425,0	297,8	7,09	1,25
	575	403			$\chi^2_4 = 88,04 \rightarrow Hs$	

$$p = 10^{-10}$$

72 Std.

PE	6	7	9,3	3,5	1,22	3,25
bE	9	12	15,1	5,7	2,52	6,64
pE	65	23	63,6	24,2	0,02	0,06
oE	5	5	7,2	2,7	0,68	1,82
rE	282	93	271,0	103,5	0,41	17,73

367 140

$$\chi^2_4 = 17,73 \rightarrow s$$

$$p = 0,0015$$

Tabelle 10

Granulopoese: Versuch 32 $\frac{1}{2}$ Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
Mb	18	12	15,5	14,4	0,38	0,40
Pr	672	657	689,4	639,4	0,43	0,47
My	150	183	172,5	160,0	2,95	3,28
eMy	10	24	17,5	16,27	3,24	3,66
Pmo	9	8	8,6	8,05	3,10	0,00
MM	168	204	192,8	178,8	0,03	3,52
St	38	39	38,0	36,9	0,08	0,11
Seg	656	480	389,1	546,5	7,52	8,09
eSe	13	26	20,07	18,6	2,49	2,91
Mz	75	45	62,6	57,7	2,62	2,80
	1809	1678			$\chi^2_9 = 48,31 \rightarrow \text{Hs}$	
					p = 10	

48 Std.

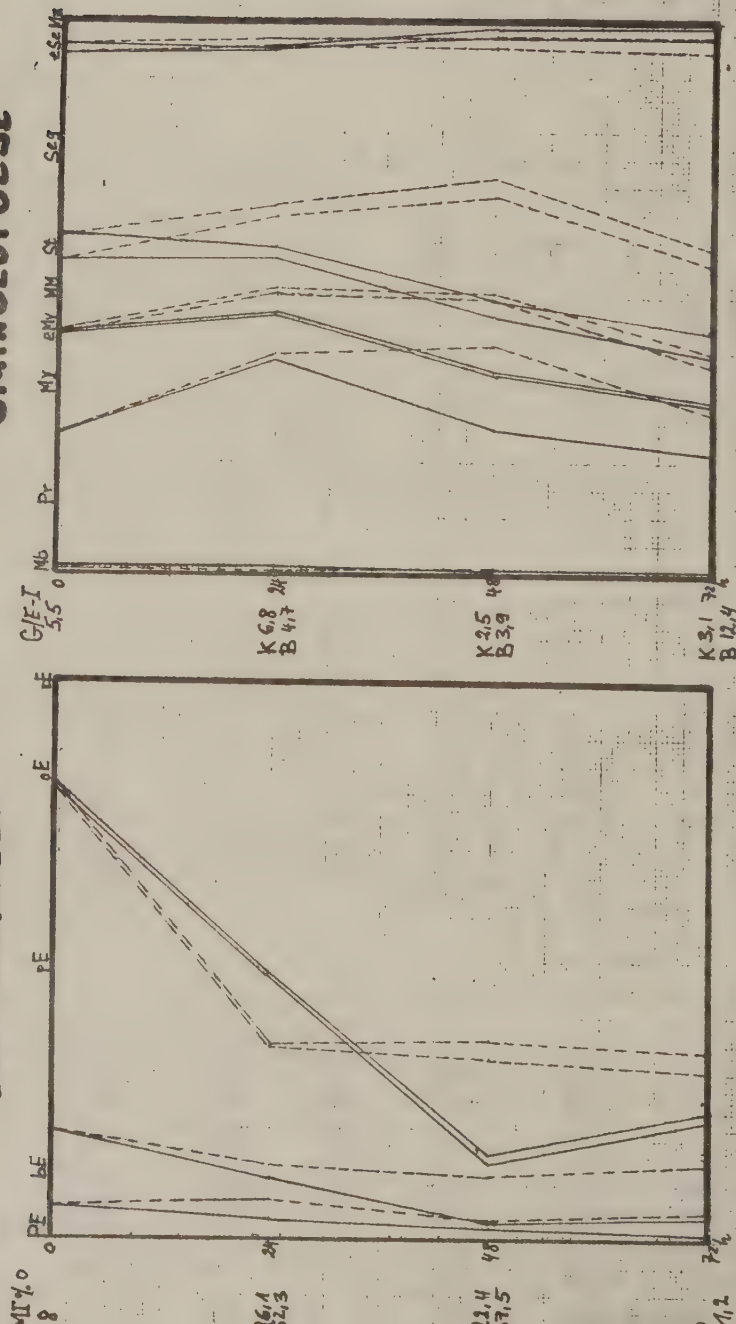
Mb	5	16	12,4	8,3	4,40	7,03
Pr	375	188	337,1	225,6	4,20	6,27
My	149	185	199,9	133,8	12,00	19,58
eMy	8	39	28,1	18,5	14,40	21,58
Pmo	3	3	46,1	97,8	0,02	0,03
MM	145	93	72,4	48,4	15,46	23,21
St	39	82	589,4	394,4	20,72	30,93
Seg	700	284	43,1	28,8	6,00	9,05
eSe	27	46	36,5	24,4	12,66	19,05
Mz	15	46				
	1466	981			$\chi^2_9 = 290,97 \rightarrow \text{Hs}$	
					p = 10	

72 Std.

Mb	7	7	5,5	8,4	0,37	0,25
Pr	239	515	299,0	454,7	12,7	7,99
My	102	160	103,8	157,9	0,30	0,02
eMy	10	46	22,2	33,7	6,71	4,42
Pmo	4	2	147,5	224,2	10,41	12,80
MM	90	276	37,2	56,5	3,09	1,90
St	48	46	497,5	756,0	30,15	19,79
Seg	620	634	22,2	33,7	0,06	0,04
eSe	21	35	19,7	30,0	3,06	2,08
Mz	12	38				
	1153	1759			$\chi^2_9 = 124,49 \rightarrow \text{hs}$	

ERYTHROPOESE

GRANULOPOESE



Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese:
 Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.
 Ordinaten: Zeit in Stunden.
 Abkürzungen u. Erklärungen siehe s. 9, 10, 11

Versuch 4

Abb. 4 Tab. 11, 12, 15, 19

A. Reifungskurve der Erythropoese:

Die 24-Stunden-Kultur zeigt durch den Zusatz der Serumfraktion eine leichte Rechtsverschiebung, die nicht signifikant ist. Für die 48- und 72-Stunden-Kulturen ergibt sich eine Linksverschiebung, die signifikant sind.

B. Reifungskurve der Granulopoese:

Die 24-Stunden-Kultur zeigt eine leichte Linksverschiebung, die noch Signifikanz aufweist, während die 48-Stunden-Kultur signifikant und die 72-Stunden-Kultur hochsignifikant rechtsverschoben ist.

C. G/E-Index:

Die G/E-Indices zeigen in der 24-, 48- und 72-Stunden-Kultur sowohl in der Kontrolle als auch in dem Zusatz eine Abnahme ohne eindeutige Unterschiede.

D. Mitoseindices:

Die 24- und 48-Stunden-Werte der Kontrollkulturen der Erythropoese sind deutlich erhöht, der 72-Stunden-Wert ist erniedrigt im Vergleich zu dem Originalpräparat. Bei dem 24- und 48-Stunden-Wert der Zusatzkulturen tritt eine Erniedrigung hervor, während der 72-Stunden-Wert deutlich erhöht ist.

In der Granulopoese sind die 24- und 48-Stunden-Werte der Zusatzkulturen erniedrigt. Der 72-Stunden-Wert zeigt eine deutliche Erhöhung.

Tabelle 11

Erythropoese: Versuch 4

24 Std.

	B		E		(B-E) ² / E	
Zelltyp	K	Z	K	Z	K	Z
PE	36	56	44,4	47,3	1,61	1,56
bE	94	102	94,8	101,0	0,00	0,00
pE	236	222	221,7	236,2	0,91	0,85
oE	14	6	9,6	10,3	1,93	1,79
rE	526	577	533,9	568,8	0,11	0,12
	906	963			$\chi^2_4 = 8,93$	
					p = 0,06	

48 Std.

PE	24	16	18,5	21,4	1,62	1,36
bE	56	48	48,2	55,7	1,26	1,07
pE	56	145	108,4	125,4	3,49	3,05
oE	4	14	8,3	9,6	2,25	1,96
rE	505	561	494,3	571,6	0,23	0,19
	645	784			$\chi^2_4 = 16,53 \rightarrow s$	
					p = 0,0027	

72 Std.

PE	17	8	10,8	14,0	3,48	2,59
bE	46	44	39,1	50,6	1,18	0,88
pE	62	86	80,0	60,0	4,05	11,26
oE	-	-	-	-	-	-
rE	423	560	413,0	570,0	0,24	0,08
	548	698			$\chi^2_4 = 12,23$	
					p = 0,003	

Tabelle 12

Granulopoese: Versuch 4

2/4 St

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
Mb	17	12	15,9	12,9	0,07	0,06
Pr	185	128	172,6	140,2	0,87	1,07
My	375	328	387,8	315,0	0,42	0,53
eMy	26	19	19,2	15,6	2,35	2,82
Pmo	6	9	8,2	6,6	0,60	0,79
MM	104	82	108,0	87,7	0,15	0,20
St	67	71	76,0	61,7	1,08	1,37
Seg	170	137	169,3	137,5	0,00	0,00
eSe	32	12	24,1	19,6	2,50	2,90
Mz	88	71	87,7	71,2	0,00	0,00

1070 869

$$\chi^2_g = 17,95 \rightarrow s$$

$$p = 0,0015$$

48 St

Mb	16	10	14,4	11,4	0,15	0,17
Pr	255	188	247,7	195,0	0,21	0,25
My	295	185	268,5	211,4	2,61	3,31
eMy	21	39	33,5	26,5	4,69	5,98
Pmo	12	3				
MM	110	93	121,9	96,0	0,00	0,00
St	62	82	80,4	63,3	4,20	5,40
Seg	352	284	355,6	280,1	0,03	0,05
eSe	55	45	55,8	43,9	0,01	0,02
Mz	60	46	59,1	46,6	0,01	0,00

1238 975

$$\chi^2_g = 27,25 \rightarrow s$$

$$p = 0,0009$$

72 St

Mb	8	11	9,4	9,3	0,23	0,28
Pr	174	236	206,0	203,7	4,98	5,11
My	355	382	370,5	366,3	0,65	0,66
eMy	38	80	59,2	58,6	7,63	7,80
Pmo	4	3				
MM	111	117	118,0	116,7	0,07	0,09
St	79	51	65,2	64,5	2,88	2,83
Seg	350	183	267,9	264,0	25,12	25,34
eSe	81	109	95,4	94,4	2,19	2,25
Mz	48	62	55,2	54,6	0,96	0,12

1248 1234

$$\chi^2_g = 90,12 \rightarrow \text{his}$$

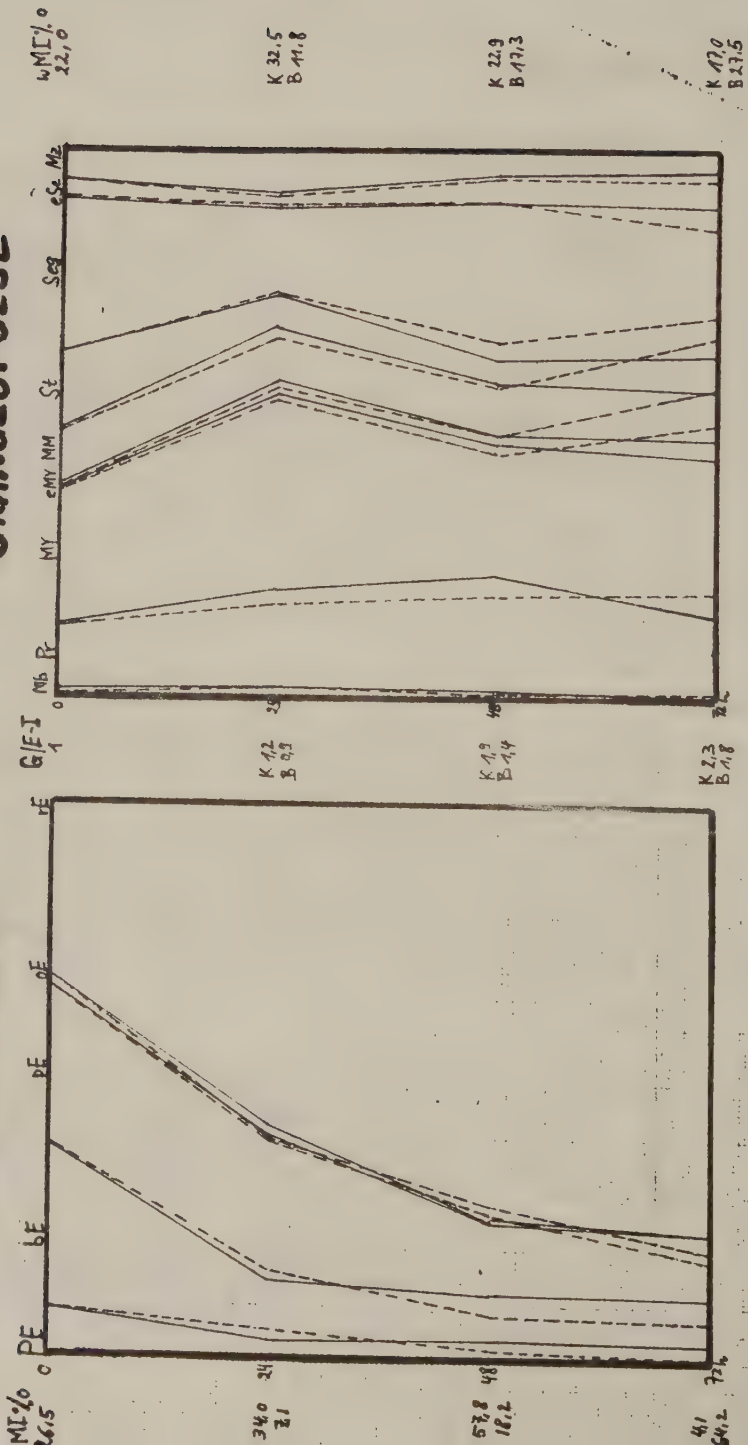
$$p = 10^{-10}$$

Versuch 4

ABBILDUNG 4

ERYTHROPOESE

GRANULOPOESE



Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese:
 Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.
 Ordinaten: Zeit in Stunden.
 Abkürzungen u. Erklärungen siehe s. 9, 10, 11

— = Kontrolle

Versuch 5

Abb. 5, Tab. 13, 14, 15, 19

A. Reifungskurve der Erythropoese:

Die 24-Stunden-Kultur zeigt durch den Zusatz der Serumfraktion eine deutliche Rechtsverschiebung, die signifikant ist. Für die 48-Stunden-Kultur ergibt sich, daß die Kurven nach links verschoben sind. Die 72-Stunden-Kultur konnte nicht gezählt werden.

B. Reifungskurve der Granulopoese:

In den 24- und 48-Stunden-Kulturen sieht man eine Linksverschiebung, die signifikant ist bis auf die Promyelozyten in der 24-Stunden-Kultur. Die 72-Stunden-Kultur konnte ebenfalls nicht gezählt werden.

C. G/E-Index:

Die G/E-Indices zeigen in der Kontrollkultur eine deutliche Abnahme im Vergleich zum Originalpräparat, während sich bei der Zusatzkultur eine mäßige Zunahme der 24- und 48-Stundenwerte feststellen läßt.

D. Mitoseindices:

Die Mitoseindices sind für alle Kulturzeiten in der Erythropoese erniedrigt. In der Granulopoese sind sie erniedrigt bis auf die 24-Stunden-Kultur.

Tabelle 13

Erythropoese: Versuch 5

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² / E	
	K	Z	K	Z	K	Z
PE	14	40	20,0	33,9	1,82	1,09
bE	10	37	17,4	29,4	3,17	1,91
pE	142	274	154,5	261,3	1,01	0,61
oE	52	50	37,8	64,0	5,20	3,08
rE	135	196	122,9	207,9	1,17	0,69
	353	597			$\chi^2_4 = 19,83 \rightarrow s$	

$$p = 0,005$$

48 Std.

PE	4	4				
bE	8	7	9,5	13,3	0,61	0,42
pE	41	52	38,7	54,1	0,12	0,08
oE	31	23	22,5	31,4	3,20	2,27
rE	150	241	163,0	227,8	1,0	0,75
	234	327			$\chi^2_4 = 8,51$	

$$p = 0,1$$

72 Std.

PE	3	-				
bE	5	-				
pE	32	-				
oE	20	-				
rE	220	-				

Tabelle 14

Granulopoes: Versuch 5

24 Std.

Zelltyp	B		E		(B-E) ² /E	
	K	Z	K	Z	K	Z
Mb	10	13	7,00	15,1	0,67	0,29
Pr	68	190	87,00	170,7	4,18	2,16
My	168	268	147,20	288,6	2,93	1,48
eMy	23	36	19,80	38,9	0,49	0,22
Pmo	22	24	15,40	30,3	2,70	1,33
MM	126	240	123,50	242,3	0,04	0,02
St	36	88	41,83	82,02	0,81	0,43
Seg	60	120	60,70	119,10	0,00	0,00
eSe	20	65	28,60	56,10	2,61	1,30
Mz	30	60	30,30	0,00	59,50	0,00
	563	1104			$\chi^2_9 = 28,91 \rightarrow s$	

$$p = 10^{-5}$$

48 Std.

Mb	11	30	15,4	25,3	1,29	0,84
Pr	110	122	87,8	143,9	5,50	3,36
My	170	168	128,0	209,8	13,70	8,34
eMy	13	42	20,8	34,0	2,90	1,83
Pmo	12	51	23,8	39,1	5,90	3,60
MM	150	255	153,4	251,5	0,07	0,04
St	61	90	57,1	93,6	0,25	0,14
Seg	115	155	102,3	167,7	1,50	0,96
eSe	14	140	58,3	95,5	33,60	20,60
Mz	26	55	30,6	50,3	0,71	0,43
	682	1118			$\chi^2_9 = 151,75 \rightarrow Hs$	

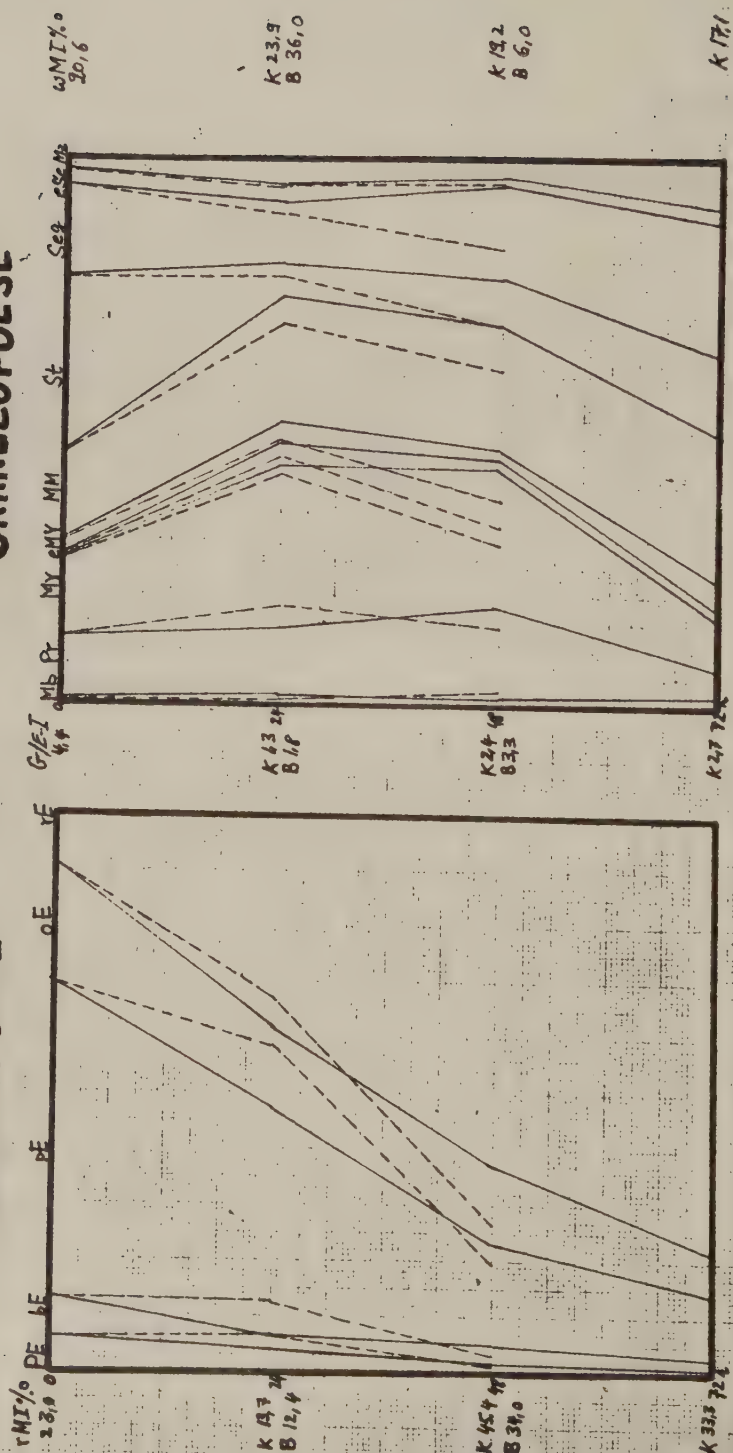
$$p = 10^{-10}$$

72 Std.

Mb	15	-
Pr	37	-
My	62	-
eMy	10	-
Pmo	35	-
MM	190	-
St	102	-
Seg	18	-
Mz	65	-

ERYTHROPOESE GRANULOPOESE

Versuch 5



Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese:
 Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.
 Ordinaten: Zeit in Stunden.
 Abkürzungen u. Erklärungen siehe s. 9, 10, 11

Tabelle 15

Roter Mitoseindex (rMI) in % 0 angegeben:

Versuch	Original- präparat	Kontrollen			Zusatz Milz B		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	20,3	20,9	23,2	14,9	37,5	58,5	58,8
2	12,4	27,0	36,1	40,4	22,6	11,1	0,0
3	8,0	16,1	22,4	0,0	32,3	37,5	21,2
4	26,5	34,0	57,8	4,1	7,7	18,2	64,2
5	23,0	13,7	45,4	33,3	12,4	34,0	0,0
Arithm.	18,0	22,3	36,9	18,5	26,5	31,8	28,8
Mittel							

Weißer Mitoseindex (wMI) in % 0 angegeben:

Versuch	Original- präparat	Kontrollen			Zusatz Milz B		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	15,1	38,1	19,6	14,3	29,4	27,0	20,9
2	23,2	22,2	6,5	19,5	26,8	20,6	18,9
3	11,3	10,5	18,8	24,3	19,4	24,0	25,1
4	22,0	32,5	22,9	17,0	11,8	17,3	27,5
5	20,7	23,9	19,2	17,1	36,0	6,0	0,0
Arithm.	18,5	25,4	17,4	18,4	24,6	18,8	18,5
Mittel							

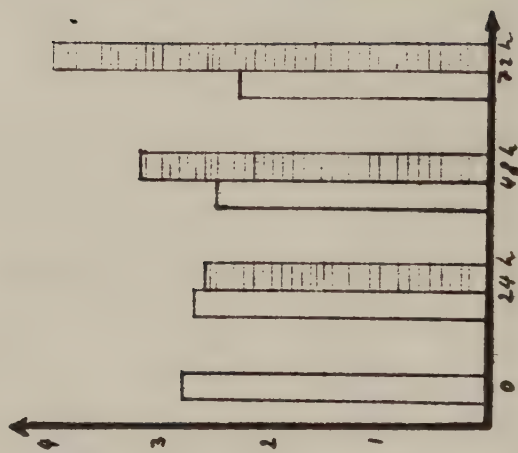
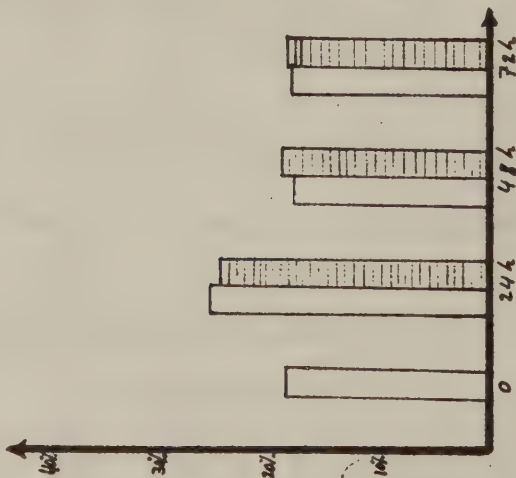
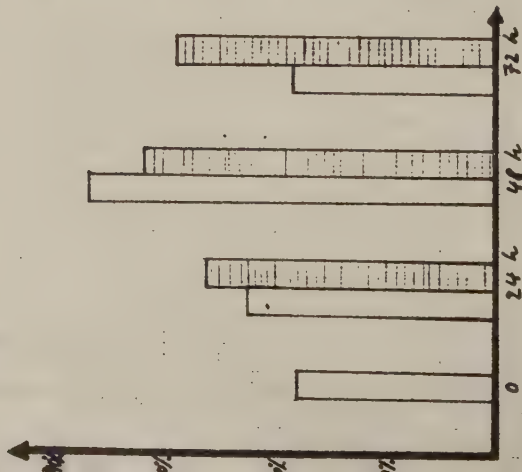
ABBILDUNG 6

Mittelwerte der Mitoseindices

ERYTHROPOESE

GRANULOPOESE

G/E-I



Kontrolle =  = Serumfraktion B 

Tabelle 16

Berechnung der Mitoseindices auf Unterschiede aller 5 Versuche.

Erythropoese: 24 Std.

		B		E		$(B-E)^2/E$	
		Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	34		2678	29,9	2682,6	0,53	0
Zusatz	28		2841	31,8	2837,2	0,45	0
	62		5457			$\chi^2 = 0,993$	
						$p = 0,32$	

48 Std.

		B		E		$(B-E)^2/E$	
		Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	29		2438	26,3	2440,7	0,27	0,01
Zusatz	21		2177	23,5	2175,0	0,26	0,00
	50		4565			$\chi^2 = 0,538$	
						$p = 0,6$	

72 Std.

		Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	10		2074	14,9	2078,9	1,6	0,01
Zusatz	16		1512	10,8	1506,0	2,4	0,01
	26		3560			$\chi^2 = 4,03 \rightarrow s$	
						$p = 0,56$	

Tabelle 17

Berechnung der Mitoseindizes auf Unterschiede aller 5 Versuche.

Granulopoese: 24 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	88	5525	91,7	5521,3	0,15	0,02
Zusatz	105	6065	100,6	6069,4	0,18	0,03
	193	11397			$\chi^2 = 0,335$	$p = 0,75$

48 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl	Mitosen	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	57	5517	66,2	5507,8	1,27	0,01
Zusatz	74	5370	64,4	5379,6	1,40	0,01
	131	10756			$\chi^2 = 2,69$	$p = 0,72$

72 Std.

	B		E		(B-E) ² /E	
	Mitose	Gesamt- zellzahl	Mitose	Gesamt- zellzahl	Mitose	Gesamt- zellzahl
Kontrolle	46	4531	54,3	4522,7	1,28	0,01
Zusatz	67	4883	58,5	4891,5	1,20	0,01
	113	9301			$\chi^2 = 2,49$	$p = 0,73$

Tabelle 18

Berechnung der Mitoseindizes auf Stetigkeit aller 5 Versuche

Erythropoese: Kontrollwerte

B		E		$(B-E)^2/E$	
Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl
24h 34	2678	27,5	2684,5	1,57	0,01
48h 29	2438	25,0	2442,0	0,64	0,00
72h 10	2074	21,1	2062,2	5,80	0,05
73	7117			$\chi^2 = 8,10 \rightarrow s$	$p = 0,10$

Erythropoese: Zusatz Milz B

B		E		$(B-E)^2/E$	
Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl
24h 28	2841	28,5	2840,5	0,09	0
48h 21	2177	21,8	2175,2	0,14	0
72h 16	1512	15,2	1512,8	0,42	0
65	6465			$\chi^2 = 9,16 \rightarrow s$	$p = 0,013$

Granulopoese: Kontrollwerte

B		E		$(B-E)^2/E$	
Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl
24h 88	5525	68,8	5544,2	3,90	0,04
48h 57	5517	68,3	5505,7	1,86	0,02
72h 46	4531	56,1	4520,9	1,82	0,00
191	15382			$\chi^2 = 9,16 \rightarrow s$	$p = 0,013$

Granulopoese: Zusatz Milz B

B		E		$(B-E)^2/E$	
Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl	Mitosen	Gesamt-zellzahl
24h 105	6065	93,0	6077,0	1,54	0,02
48h 74	5370	82,0	5362,0	0,78	0,01
72h 67	4883	74,6	4875,4	0,77	0,01
246	16072			$\chi^2 = 3,10$	$p = 0,20$

Tabelle 19

G/E-Indices der fünf Versuche

Versuch	Original- präparat	Kontrollen			Zusatz B		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	1,5	1,0	1,4	1,6	3,6	3,5	3,7
2	1,7	3,4	4,5	1,7	1,9	4,1	2,4
3	5,5	6,8	2,5	3,1	4,7	3,9	12,4
4	1,0	1,2	1,9	2,3	0,9	1,4	1,8
5	4,4	1,3	2,4	2,7	1,8	3,3	0,0
Arithm.	2,8	2,7	2,5	2,3	2,6	3,2	5,1
Mittel							

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Abb. 7, Tab. 20, 21

Bei den Knochenmark-Proben von fünf Patienten

1 hämolytische Anämie, 2 metastasierende Carcinome und
2 splenogene Markhemmungen bei Lebererkrankung - wurden
folgende Ergebnisse festgestellt:

A. Mittlere Reifungskurve der Erythropoese: Abb. 7

Für die 24-Stunden-Kultur ergab sich durch den Serumfraktionszusatz eine Vermehrung der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten, während bei den anderen Zellen eine leichte Reifungsförderung festgestellt wurde. Die 48- und 72-Stunden-Kulturen zeigten eine Rechtsverschiebung, die reifen Erythroblasten nahmen ab.

Der 72-Stunden-Wert ergab eine deutliche Rechtsverschiebung.

B. Reifungskurve der Granulopoese: Abb. 7

Schon nach 24 Stunden waren die segmentkernigen Granulozyten vermehrt, die nach 48 Stunden und 72 Stunden deutlich zunahmen. Zuletzt wurden alle Zellarten in der Reifung gefördert.

C. G/E-Indices: Tab. 19

Die mittleren G/E-Indices zeigten in den Kontrollkulturen und im 24-Stunden-Wert der Zusatzkultur eine Verkleinerung. Nach 48 Stunden und nach 72 Stunden waren bei den Zusatzkulturen die G/E erhöht, d.h. die Erythroblasten hatten gegenüber den Kontrollen abgenommen, so daß die Rechtsverschiebung der Erythropoese nach 72 Stunden als Reifungsförderung angesehen werden kann.

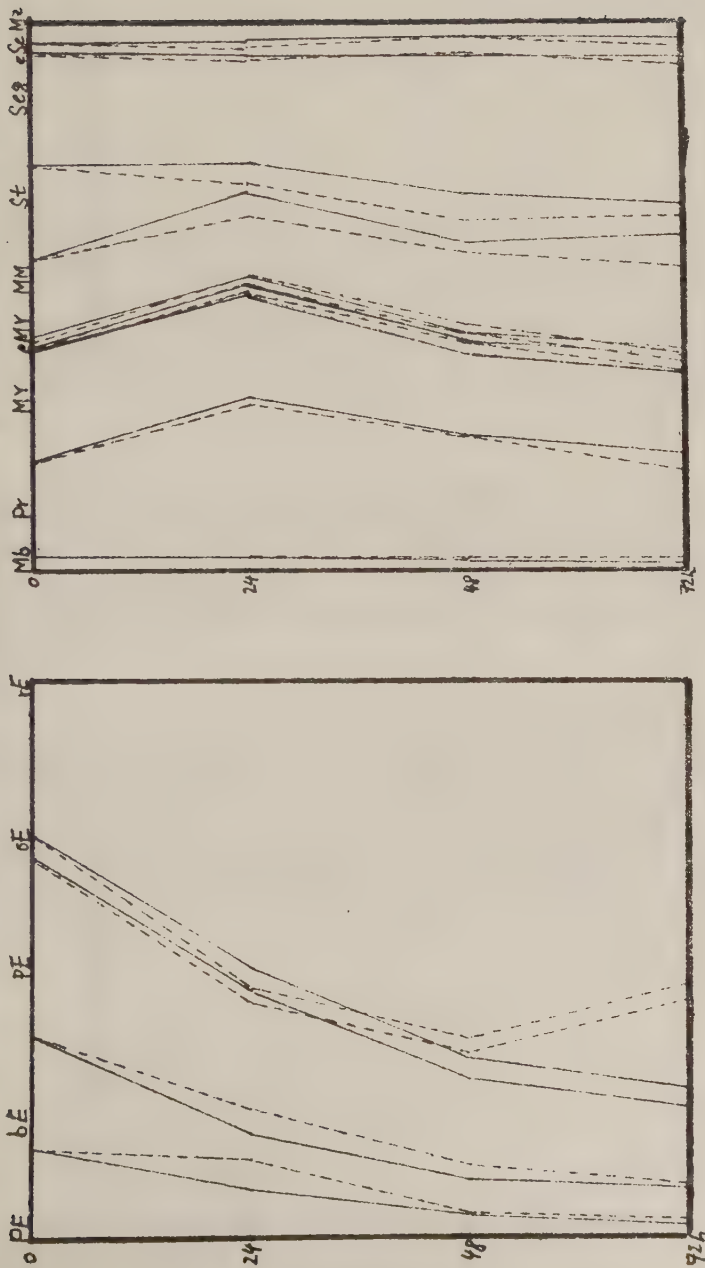
D. Die mittleren Mitoseindices: Tab. 15

In der Erythropoese trat durch den Zusatz eine Zunahme der Mitoseindices sowohl nach 24 wie nach 72 Stunden auf. Die Mitoseindices in der Granulopoese zeigten in den Kontrollkulturen eine Zunahme in den 24 Stunden und in den 48 Stunden, der 72-Stunden-Wert nahm ab. Die Mittelwerte der Zusatzkultur blieben jedoch unter den Kontrollen genau beim Ausgangswert.

Die Unterschiede waren alle nicht signifikant.

ERYTHROPOESE

GRANULOPOESE



Belwertreifeungskurven der Gesamt Erythropoese und Granulopoese:
 Abszissen: additive Anordnung der einzelnen Zellarten.
 Ordinaten: Zeit in Stunden.
 Abkürzungen u. Erklärungen siehe s. 9, 10, 11

KARYOLOGISCHE KURVEN:

Abb. 8

Für die karyologischen Kurven benötigen wir die Summe aller Mitosen der fünf Fälle, die gezählt wurden. Die karyologischen Kurven zeigen die Veränderungen der Verhältnisse der einzelnen Mitosephasen zueinander. Die Summenkurven der Erythropoese und der Granulopoese wurden über insgesamt 138 rote und 435 weiße Mitosen aufgestellt.

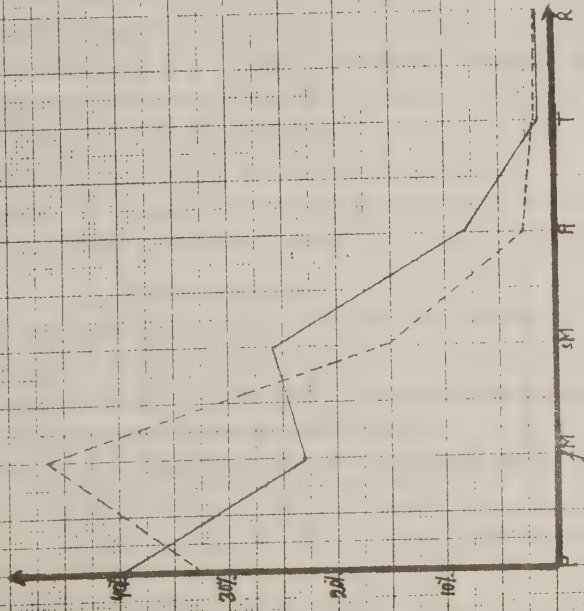
Von 138 roten Mitosen entfielen 73 auf die Kontrollkulturen und 65 auf die Zusatzkulturen. Die Erythropoese zeigt eine starke Zunahme der frühen Metaphasen und einen ganz leichten Zuwachs der Telophasen und Rekonstruktionsphasen durch die Fraktion B.

Von 435 weißen Mitosen entfielen 189 auf die Kontrollpräparate und 246 auf die Zusatzpräparate. In der Granulopoese findet sich eine deutliche Zunahme der Prophasen der frühen Metaphasen und ein geringfügiger Zuwachs der Telophasen und Rekonstruktionsphasen. Außerdem stellte sich heraus, daß die späten Metaphasen und die Anaphasen durch die Fraktion B abgenommen haben.

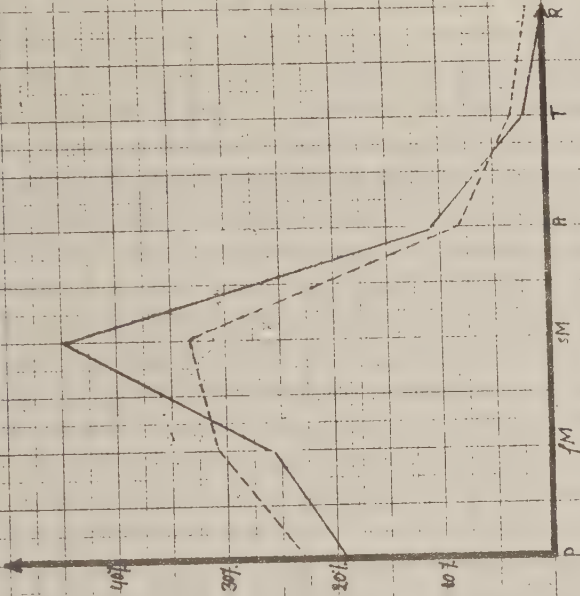
ABBILDUNG 8

Karyologische Kurven

ERYTHROPOESE



GRANULOPOESE



Insgesamt lagen 138 rote und 435 weiße Mitosen der Auswertung zugrunde.

— = Kontrollkulturen 73 Mitosen — = Zusatzkulturen 189 Mitosen

--- = Zusatzkulturen 65 Mitosen --- = Zusatzkulturen 246 Mitosen

DISKUSSION

Der Einfluß von tierischen und menschlichen Extrakten hypersplener Milzen auf menschliche Knochenmarkkulturen ist von v. ALBERT (1,2) 1962/63 untersucht worden. Das Verhalten der Kinetik des Knochenmarks von Patienten mit Milztumoren wurde von BOLL (8) 1970 beschrieben.

Im Restdialysat nach 100% Ammonsulfatsättigung müßten Wirkstoffe zwischen 10 000 und 50 000 Molekulargewicht enthalten sein. Durch den Zusatz von eingefrorenem Serum einer Patientin, die an splenogener Markhemmung bei Lebercirrhose litt, wurde an Knochenmarkproben anderer Probanden eine hochsignifikante Reifungshemmung der Granulopoese und eine leichte Stimulierung der Erythropoese ausgelöst (SCHULZ (32)). Versuche, diesen Faktor in Serum einzuengen, führten zu uneinheitlichen Ergebnissen. Die Untersuchung der Proliferation von menschlichen Knochenmarkkulturen nach Applikation von dialysiertem Überstand nach Ammoniumsulfatfällung der Seren von zwei Patienten mit hypersplenen Milzen erbrachte eine erhebliche Reifungsförderung der Erythropoese und eine wesentlich geringere Reifungshemmung der Granulozytose. Dieselben Seren, gegen physiologisches Kochsalz dialysiert (24), erzeugten eine geringfügige Reifungshemmung in der Erythropoese und sogar eine leichte Reifungsförderung in der Granulopoese. Das Dialysat bewirkte in den Zusatzkulturen eine Abnahme des Mitoseindex in der Erythropoese, in der Granulozytopoese nahmen der Index durch Vermehrung der frühen Metaphasen zu.

Die Serumdialysate nach Ammoniumsulfatfällung von denselben Patienten mit hypersplenen Milzen (33) bewirkten am menschlichen Knochenmark ebenfalls keine so starke Hemmung der Granulozytopoese wie es das Gesamtserum hervorgerufen hatte. Die Reifung der Erythroblasten wurde hingegen stark gefördert.

Diese Aufarbeitung derselben Seren, wie in der Methode beschrieben, zeigte nun sogar eine mäßige Reifungsförderung der Granulopoese, jedoch eine Reifungshemmung der Erythroblasten, die sich allerdings nicht im G/E-Index widerspiegelt. Nach dem Mitose-Index haben die Erythroblasten eine geringfügig zunehmende Regeneration. Die Mitose-Indices der Granulopoese waren gering, nicht signifikant erniedrigt.

Die karyologischen Kurven (Abb.8) zeigen in der Erythropoese eine starke Zunahme der frühen Metaphasen, so daß die Erhöhung des Erythroblasten-Mitoseindex auch als Regenerationshemmung bei verzögertem Mitoseablauf diskutiert werden muß.

Die Ergebnisse mit der Serumfraktion nach 100 % Ammonsulfat-sättigung entsprechen in der Reifung am ehesten denen mit dem Dialysat gegen physiologische Kochsalzlösung (24), jedoch nicht in der Regeneration.

Aufgrund dieser Ergebnisse und der Resultate der Voruntersucher, die mit Ammoniumsulfathalbsättigung arbeiteten, darf als wahrscheinlich angenommen werden, daß im Serum von Patienten mit einem Milztumor nicht nur eine Substanz oder Wirkungsgruppe enthalten ist, welche die Kinetik des Knochenmarks beeinflusst. Vielmehr muß es sich um ein System aus Hemmungs- und Aktivierungsfaktoren handeln, die durch Fraktionierung des Serums isoliert werden können und deren unterschiedliche Wirkung sich an Knochenmarkkulturen aufzeigen läßt.

ZUSAMMENFASSUNG

In vitro wurde dem menschlichen Knochenmark ein Serumdialysat von zwei Patienten mit einem Milztumor zugesetzt. Nach 0, 24, 48 und 72 Stunden wurde an Kontroll- und Zusatzkulturen eine Differentialzählung durchgeführt. In Abständen von einem Tag wurde der Mitoseindex und der G/E-Index aus den Differentialzählungen der Kulturausstriche ermittelt und Reifungskurven und karyologische Kurven wurden angefertigt. Die gefundenen Daten wurden mit Hilfe χ^2 -Verfahrens statistisch geprüft.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigt zuerst eine Reifungshemmung der Erythropoese und später deren Förderung und eine mäßige Reifungsförderung der Granulopoese ab 24 Stunden. Die Regeneration ist nach dem Mitoseindex und den karyologischen Kurven in der Erythropoese etwas gefördert oder der Mitoseablauf verzögert, jedoch nicht in der Granulopoese.

Auf Grund unserer Untersuchungen ist anzunehmen, daß es mehrere Wirkgruppen splenaler Herkunft im Serum der Patienten mit unterschiedlicher Wirkung auf die Proliferation der Erythro- und Granulopoese geben muß.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. v.Albert, H.-H.:
Hemmwirkung eines Extraktes aus einer menschlichen
Hyperspleniemilz in der Knochenmarkkultur.
Klin.Wochenschr. 40: 211 (1962)
2. v.Albert, H.-H.:
Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung
"hypersplener" Milzen.
Blut IX: 104 (1963)
3. v.Albert, H.-H.:
Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung
"hypersplener" Milzen.
Blut XIII: 104 (1966)
4. Belitz, H.-J.:
Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie
Ernst Klett-Verlag, Stuttgart (3/60)
5. Boll, I.:
Granulopoese unter physiologischen und pathologischen
Bedingungen.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1966
6. Boll, I.:
Die Proliferationskinetik der normalen und leukämischen
Granulozytopoese.
Folia hämatolog. (Lpz.) 91, 172 (1969)

7. Boll, I.:
Die Proliferationskinetik der normalen und angeregten
Erythropoese nach morphologischen Kriterien.
Hämatologie und Bluttransfusion 8.
S.49 (1969)
8. Böll, I.:
Das Knochenmark bei Milztumor und seine Kinetik nach
dem Verhalten in der 3-Tage-Kultur in Lennert,
K. Die Milz
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
(1970) S. 355
9. Boll, I. und Mersch, G.:
Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik
der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
Blut XVIII, 193 (1968)
10. Boll, I. und Mersch, G.:
Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik
der normalen und pathologischen Granulozytopoese in vitro.
Blut XIX, 257 (1969)
11. Fischer, I.:
Hypersplenismus (was er ist, was er nicht ist).
Internist (Berl.) 12 (1971) 176
12. Frank, E.:
Aleukia Splenica
Berlin Klin.Wochenschr.53, 555 (1916)
13. Heckner, F.:
Leitfaden der Blutzellkunde
Urban & Schwarzenberg, München und Berlin (1961)

14. Haam, E. und Awny, A.Y.:
Pathology of hypersplenismus
Amer.J.clin.path. 18, 313 (1948)

15. Heilmeyer, I.:
Funktionsprüfung der Leukopoese des Knochenmarks
Dtsch.Med.Wochenschr. 82, 644 (1937)

16. Heilmeyer, L.:
Physiologische Beziehungen zwischen Milz und Knochenmark
Klin.Wochenschr. 33:689 (1955)

17. Hittmair, A.:
Heilmayr - Hittmair Handbuch ges. Hämatologie
Band 5, 2: 192 ff
Urban & Schwarzenberg, München - Berlin - Wien (1969)

18. Hittmair, A.:
Hyper- und Dyssplenismus
Die Milz
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
S. 330 (1970)

19. Isaak, S.:
Anaemica splenica
Berlin Klin.Wochenschr. 49 (1972)

20. Kaiser, E. und Rindt, W.:
Milz und Endokrinium
Med.Klin. 60, 25 (1965)

21. Lennert, K. und Harms, D.:
Die Milz, Struktur, Funktion, Pathologie, Klinik, Therapie.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1969)

22. Linke, A. und Schrickner, K.T.:
Die Bedeutung von Leber und Milz für die neurohumorale
Regulation der Leukozyten.
5. Kongr. der Europ. Ges. für Hämatologie, Freiburg
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956
23. Maurice, P.A. und Teanrenaud, A.:
Erythropoietic depression due to splenic irradiation.
Experimental study of the distant radiological effect.
Brit. I. Haemat. 10, 327 (1964)
24. Meißner, J.D.:
Der Einfluß einer Serumfraktion von zwei Patienten mit
Milztumor auf die Kinetik des Knochenmarkes in vitro.
Dissertation, Berlin (1973)
25. Pöttgen, W.:
Die moderne Theorie des Hypersplenismus auf der Grundlage
zellkinetischer Befunde.
Dtsch. Med. Wochenschr. 97 (1972) 1100 - 1102
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart
26. Palmer, I.G. und Kemp, I., Cartwright, G.E. und Wintrobe, M.
Leukocyte Count in the Albino Rat
Blood VI, 3 (1951)
27. Pribilla, W.:
Über einige Funktion der Milz
Internist 8, 345 (1967)
28. Rieke, E.:
Die Einwirkung einer Serumfraktion III von Patienten mit
Hypersplenie auf menschliches Knochenmark in vitro.
Dissertation Berlin (1972)

29. Rohr, K.:
Das menschliche Knochenmark
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1960)
30. Ruhenstroth-Bauer, G.:
The Role of Humoral Splenic Factors in the Formation and
Release of Blood Cells.
Seminars in Haematology, 2, No.3 (July) 1965
31. Ruhenstroth-Bauer, G. und Maier, K.H.:
Versuche zum Nachweis eines spezifischen erythropoetischen
Hormons.
Nanny-Schmiedeberg-s Arch.exp.path.Pharmak.
214 (1952) 464
32. Schulz, R.M.:
Die Wirkung von Seren bei Splenomegaliepatienten auf die
Proliferation von menschlichem Knochenmark in Vitro.
Dissertation, Berlin 1973
33. Siegfried, E.:
Die Einwirkung von Serumdialysaten nach Ammonsulfatfällen
(Fraktion 2) von Patienten mit hypersplenischen Milzen auf
menschliches Knochenmark in Vitro.
Dissertation, Berlin 1973
34. Streicher, H.J.:
Was ist Hypersplenismus?
Langenbecks Arch.Klin.Chir. 295, 378 (1960)
35. Streicher, H.J.:
Chirurgie der Milz
Springer-Verlag Berlin - Göttingen - Heidelberg (1960)

Frau Professor Dr. med. Irene Boll
danke ich besonders für die Überlassung
dieses Dissertationsthemas und ihre Unter-
stützung und Hilfsbereitschaft bei meiner
Arbeit.

Herrn Professor Dr. H. J. Belitz danke
ich für die Beratung und Überwachung
der Signifikanzberechnung.

Herrn Professor Dr. Ruhenstroth-Bauer,
Max-Planck-Institut für Biochemie, München,
bin ich für die Fraktionierung der Seren zu
großem Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Am 20.1. 1947 wurde ich in Kabul/Afghanistan geboren.

Besuch der Grundschule von 1953-59.

Danach Besuch des Habibia College von 1959-64 in Kabul.

November 1965 kam ich nach Deutschland und besuchte in Hamburg einen Deutschkursus.

1966 Besuch des Studienkollegs für ausländische Studierende an der Freien Universität Berlin.

SS 1967 Beginn des Studiums der Veterinärmedizin.

SS 1968 Zulassung zum Studium der Humanmedizin.

Naturwissenschaftliche Vorprüfung am 27.3. 1968.

Ärztliche Vorprüfung am 31.3. 1971 und am 7.9. 1974

Staatsexamen.

